التقنيات النسيجية

Histological techniques

كلية التـربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

المستوى الاول (A) – المحاضـرة الرابعة

2020-2019

د. هبة عباس جاسم

المصادر:

1- المطار ، عدنان عبد الامير، العلاف، سهيلة محمود و المختار، كواكب عبد القادر (1982) التحضيرات المجهرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – الجمهورية العراقية.

2- الرطوط، اسامة خالد؛ عثمان، جمال محمد؛ الطردة، محمود محمد و أبو دية، محمد (2009) اساسيات علم التحضير النسيجي. دار الثقافة- المملكة الاردنية.

3- شاهين، جميل نعمان (2006) دليل العمل في مختبر الاحياء. دار عالم الثقافة، المملكة الاردنية.

4- المشني، يوسف حسني و فطاير، عبد الرحمن (2000) الكفايات العملية لفنيو المختبرات الطبية. دار المستقبل- المملكة الاردنية.

5- عبد القادر ، عمر (2012) التحضيرات المجهرية.

https://fac.ksu.edu.sa/sites/default/files/lthdyrt_lmjhry_ljz_lthny.pdf

الطرق العامة في التحضيرات المجهرية General methods in microscopic technique :

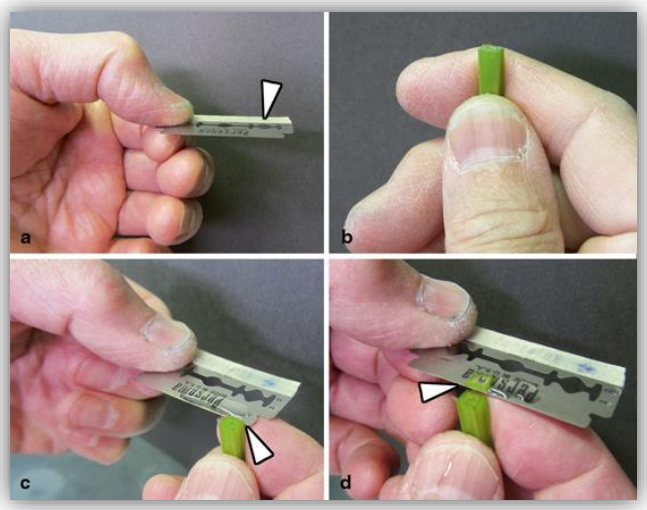
ثانياً:طريقة التحضيرات المقطعية Sectioning methods

وهي من اهم الطرق لدراسة العينات على مستواها النسيجي والخلوي والغرض منها الحصول على مقطع نسيجي رقيق جداً، ويعرف المقطع Section بانه شريحة رقيقة تقطع من جزء ماخوذ من كائن حي لغرض دراسة تركيب او ترتيب الخلايا المكونة لها.

1- طرق القطع Methods of sectioning، وتشمل طريقتين:

أ- القطع اليدوي Hand sectioning:

يستخدم القطع باليد الحرة باستعمال سكين خاص او شفرة للحصول على مقاطع من مواد تمسك باليد وتقطع الى مقاطع سميكة نوعا ما مقارنة بالمقاطع التي يتم الحصول عليها بالقطع الآلي.



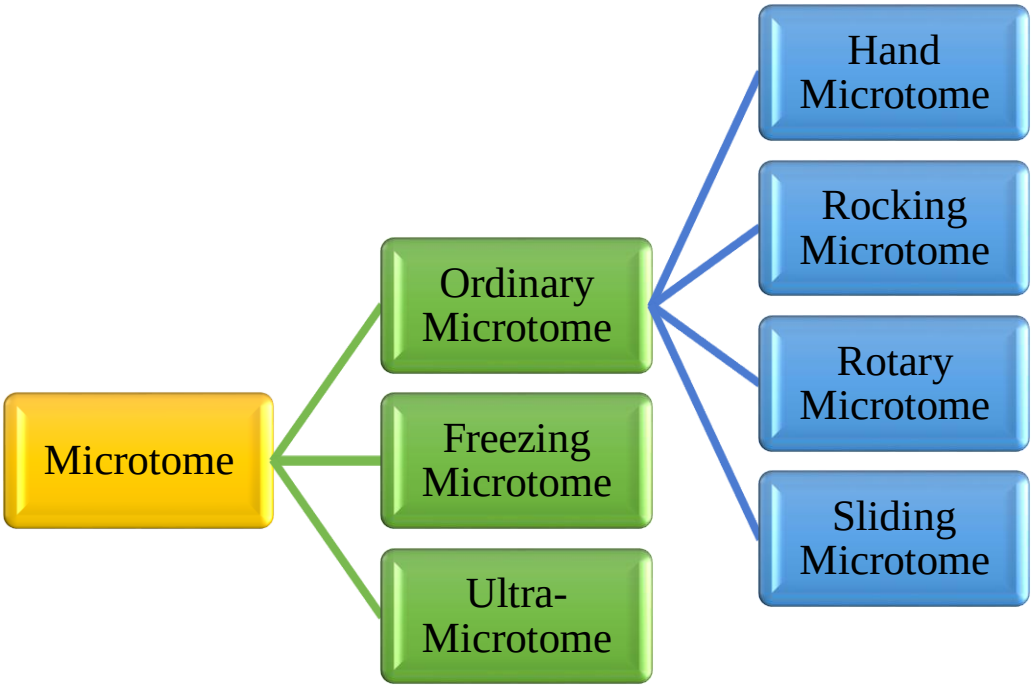
ب-القطع الآلي Mechanical sectioning:

حتى يتم دراسة المقاطع النسيجية تحت المجهر الضوئي يجب ان تكون المقاطع رقيقة، بحيث يخترقها الضوء. ويتم الحصول على المقاطع الرقيقة بواسطة استخدام جهاز المشراح او المقطاع Microtome لقطع النماذج. يتركب اي جهاز تقطيع من الاجزاء التالية:

سكين القطع، حامل السكين، حامل العينة، آلة دفع العينة او السكين اثناء القطع، آلة ضبط السمك للمقاطع.

ان اغلب الاجهزة مصنوعة بحيث تبقى السكين ثابتة وحامل العينة هو المتحرك، الا ان بعضها يكون فيه القالب ثابت والسكين هي المتحركة. توجد عدة انواع من اجهزة التقطيع، منها:

1- جهاز التقطيع اليدوي Hand microtome
2- جهاز التقطيع الهزاز Rocking microtome
3- جهاز التقطيع الدوار Rotary microtome
4- جهاز التقطيع الانزلاقي Sliding microtome
5- جهاز التقطيع الجليدي Freezing microtome (Cryostat)
6- جهاز التقطيع الدقيق او المستدق Ultra-microtome (يستخدم لعمل مقاطع فائقة السمك للفحص بالمجهر الالكتروني).



Hand microtome
https://www.youtube.com/watch?v=I5WPPPpw_2Q

Rocking microtome
https://www.youtube.com/watch?v=dsQRvW0KNTw

Rotary microtome
https://www.youtube.com/watch?v=KnMdSgd5mts

Sliding microtome
https://www.youtube.com/watch?v=_50IiLGoqVE

Ultra-microtome
https://www.youtube.com/watch?v=p9vaiXq8T7Y

Freezing microtome
https://www.youtube.com/watch?v=gqv0pHnk8qw

الخطوات المتبعة لعمل مقاطع نسيجية محملة على شرائح زجاجية:

1- الحصول على العينة Sampling (Obtaining the specimen)

2- تثبيت العينة Fixation

3- غسل العينة Washing

4- نزع الماء من العينة Dehydration

5- ترويق العينة Clearing

6- تخليل او تشريب العينة Infiltration

7- طمر العينة Embedding

8- التشذيب Trimming

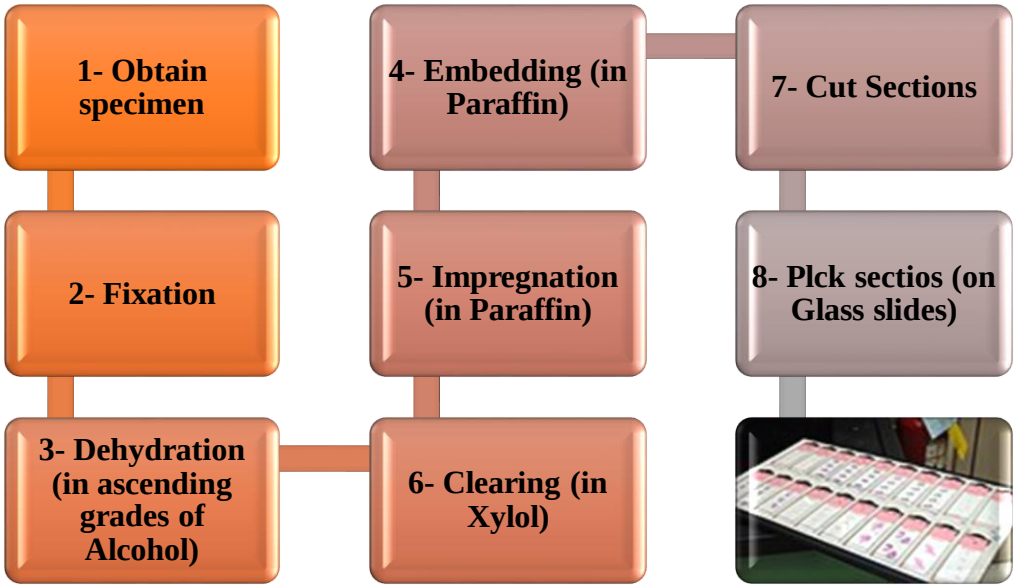
9- القطع Sectioning

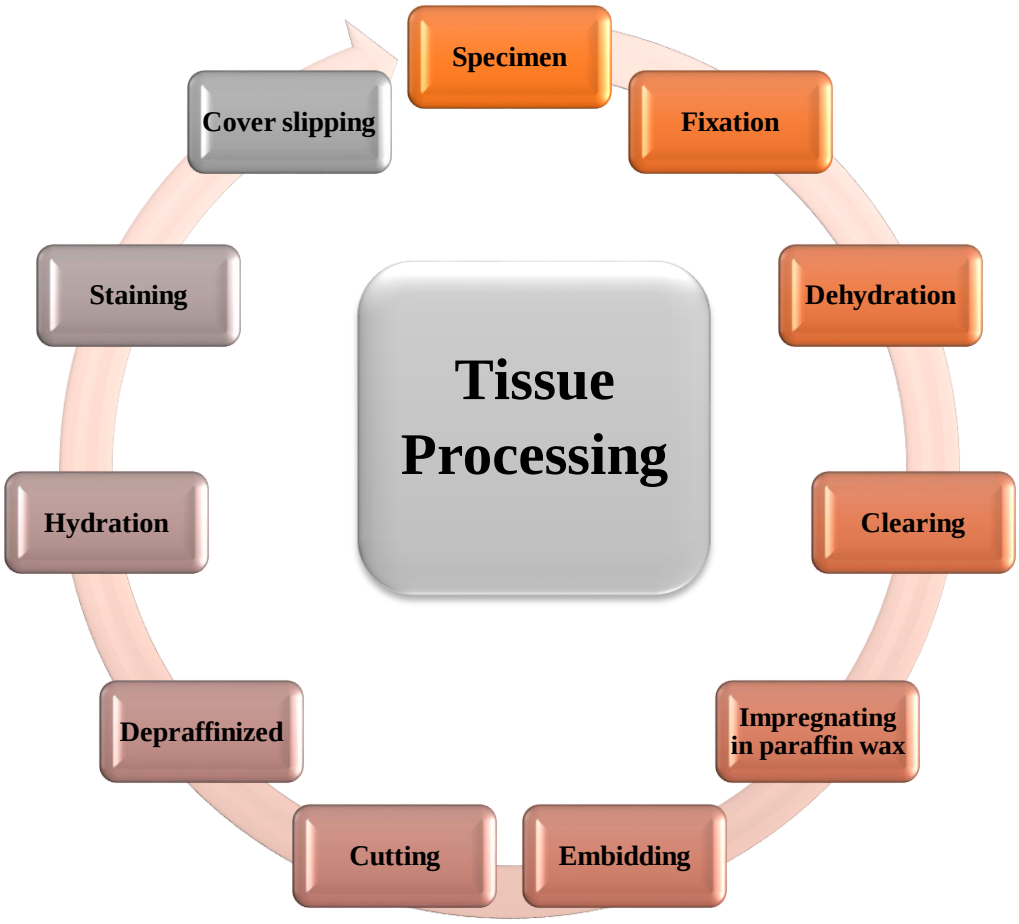
10- صبغ القطاعات Staining

11- تغطية الشرائح Mounting لعمل شريحة مستديمة Permanent slide

12- تنظيف و تعليم (وسم) الشرائح Cleaning and Labelling

خطوات الطمر بشمع البارافين Paraffin Technique





الحصول على العينة Sampling (Obtaining the specimen)

نحصل على العينة انا بشكل خزعة Biopsy من الانسان المريض خلال العملية الجراحية ومن الحيوان بعد قتله مباشرة . ويعرف القتل بانه ايقاف دائم وسريع لجميع العمليات الحيوية. وتتم عملية القتل بعدة وسائل منها: الذبح، التنخع، ضرب مؤخرة الرأس، التخدر، الخنق، التبريد.

الذبح Slaughter:

وهي من اسهل العمليات واسرعها وتطبق على معظم الحيوانات الفقارية باستثناء الاسماك ، وتستخدم فيها سكين حادة جدا وتتم عملية الذبح بقطع اوردة وشرايين الرقبة مع القصبة الهوائية والبلعوم.

التنخع Spinal dislocation

ويقصد بها شل الحيوان شلا كاملا وذلك بفصل الحبل الشوكي عن الجهاز العصبي المركزي او المخ وبذلك لا يحس الحيوان بالالم اثناء عملية التشريح وتتم عملية التنخع بغرز ابرة التشريح الحادة فيما بين الفقرة الاولى من الفقرات العنقية والجمجمية حتى تصل الى الحبل الشوكي ثم تحرك هذه الابرة (يمينا ويسارا، الى الامام والخلف) حتى نضمن الانفصال التام للحبل الشوكي عن الجهاز العصبي المركزي وكثيرا ما يطبق على الضفادع.

ضرب مؤخرة الرأس Hit the back of the head

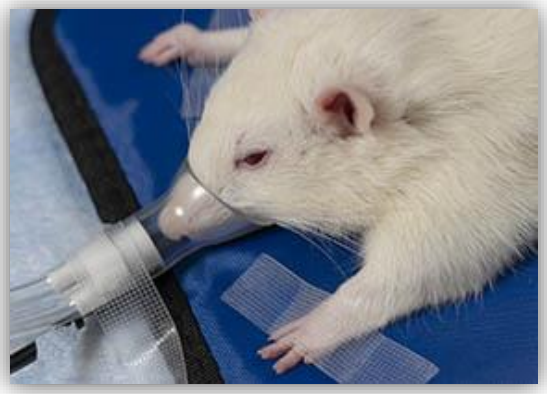
وتهدف الى ارتجاج مخي مفاجئ بحيث يصبح الحيوان بعدها في حالة غيبوبة تامة تتم هذه العملية بالامساك الجيد بالحيوانات بحيث تكون الناحية البطنية باتجاهك مع ترك منطقة العنق والرأس حرة الحركة ثم يضرب بمؤخرة الرأس الخلفية ويشكل سريع ومفاجئ على اي جسم صلب (طاولة، صخرة، حائط...الخ)، ويجب ان يتم الارتجاج المخي بضربة واحدة فقط بدون تردد او خوف والا تألم الحيوان ويعرف نجاح العملية في حالة الفار بخروج الدم من قتحتي الانف (هذه الطريقة تناسب الفئران والضفادع والافاعي).

الخنق Asphyxiation:

تستخدم مع بعض الحيوانات خاصة القواقع Snail ، وتتم بوضع الحيوان في قنينة ماء مغلي بعد تبريده بحيث يكون قد طرد جميع هوائه ثم يحكم سد القنينة.

التبريد Cooling

وتتم بالتبريد الجزئي لبعض الحيوانات كالاسماك Fishes، والديدان الشريطية Tapeworms، وذلك بوضع الحيوانات في جليد مملح او ماء مثلج او داخل ردهات المجمدات الى ان ترتخي الحيوانات بعدها تنقل الى ماء فاتر ثم تثبت.

التخدير Anesthetization:

هو ايقاف مؤقت لجميع العمليات الحيوية باستخدام مادة مخدرة مثل (الكلوروفورم Chloroform، اليثر Ether). البعض يعتبرها اول الخطوات الواجب اتباعها وخاصة لو كانت نماذج حيوانية لغرض اكساب النموذج الارتخاء الكافي وعدم تشوهه اثناء التثبيت.